

О ГЕНЕТИКО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ СОВМЕСТИМОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ СТЕБЛЕВЫХ НЕМАТОД

V. СКРЕЩИВАНИЕ КРАСНОКЛЕВЕРНОЙ РАСЫ С ДРУГИМИ ДИТИЛЕНХАМИ

Н. М. Ладыгина

Научно-исследовательский институт биологии
Харьковского университета

Получены реципрокные гибриды между стеблевой нематодой красного клевера и стеблевыми нематодами лука, земляники, пастернака, петрушки и нарциссов; проведены наблюдения за состоянием гибридных и контрольных популяций на протяжении 10 поколений. Выявлена частичная генетико-физиологическая несовместимость скрещиваемых форм стеблевых нематод, проявляющаяся в различной степени в разных комбинациях родительских пар. Стеблевая нематода красного клевера является биологической расой сборного вида *Ditylenchus dipsaci*, находящейся на определенном этапе внутривидовой дифференциации.

Стеблевая нематода красного клевера широко распространена в СССР и других странах, преимущественно в зоне с прохладным влажным климатом. Она поражает многие сорта красного клевера, вызывая значительное снижение урожая кормовых трав; переходит на некоторые другие виды растений (клевер гибридный, лук, землянику, фацелию), но круг ее хозяев ограничен. Красноклеверный дитиленх и в настоящее время относится к одной из узкоспециализированных биологических рас сборного вида *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filipjev, 1936, хотя Скарбилович (1957) выделила его в самостоятельный вид — *D. trifolii* Scarbilovich, 1957. Это определило включение дитиленха красного клевера в число объектов исследований по скрещиванию стеблевых нематод, ведущихся в последнее десятилетие за рубежом и в нашей стране с целью решения проблемы рас и выяснения таксономии этой сложной группы особо вредных нематод растений.

По данным зарубежных нематодологов, красноклеверная раса не легко скрещивается с другими расами стеблевых нематод. В комбинациях дитиленха красного клевера с дитиленхами люцерны, ржи, овса, нарциссов и тюльпанов наблюдались реципрокные и односторонние скрещивания, причем гибриды были либо стерильны, либо размножались очень слабо. Среди гибридного потомства обнаружены аномальные и мертвые нематоды и яйца (Sturhan, 1964, 1966; Eriksson, 1965; Johes, 1965; Webster, 1967).

В наших предыдущих исследованиях было выяснено, что стеблевая нематода красного клевера реципрокно скрещивается с дитиленхами лука, земляники и флоксов. Однако клеверно-земляничные гибриды F_1 размножались слабее родительских форм, а клеверно-флоксовые гибриды, полученные в комбинации с участием самцов флоксовой нематоды, по сути оказались бесплодными, так как гибридные популяции не развивались, несмотря на некоторое размножение части особей. В комбинации с самками флоксовой нематоды красноклеверный дитиленх давал многочисленные нормальные по структуре гибридные популяции, в которых почти не было уродли-

вых особей. Следует отметить, что наблюдения за клеверно-луковым и клеверно-земляничным гибридными потомствами велось только до III поколения, клеверно-флоксовые гибриды наблюдались на протяжении 10 поколений (Ладыгина, 1969, 1972, 1974).

В настоящей работе описаны результаты реципрокных скрещиваний дитиленха красного клевера с дитиленхами лука, земляники, пастернака, петрушки и нарциссов, а также материалы наблюдений за гибридными и контрольными популяциями на протяжении 10 поколений, проведенных с целью выяснения генетико-физиологической совместимости этих форм.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования выполнены в 1972—1974 гг. Объектами служили дитиленхи красного клевера, лука, земляники, нарциссов, пастернака и петрушки, извлеченные соответственно из красного клевера — *Trifolium pratense*, лука — *Allium cepa*, земляники — *Fragaria* sp., нарциссов — *Narcissus* sp., пастернака — *Pastinaca sativa*, петрушки — *Petroselinum crispum* и размноженные в мелких луковичах лука-репки. Различные формы стеблевых нематод реципрокно скрещивали в луковичах лука-севка или в мелких луковичах лука-репки. Всего изучено 16 комбинаций, из них 6 контрольных. В каждой комбинации было поставлено по 3—13 опытов. В опыт брали по 10 личинок-самок IV возраста одной формы и по 20 личинок-самцов IV возраста или взрослых молодых самцов другой формы стеблевых нематод. Всего проведено 124 исходных опыта по скрещиванию дитиленхов, в том числе 43 контрольных. В дальнейшем количество опытов нарастало от поколения к поколению, так как разные поколения были изолированы друг от друга, а по каждому поколению ставили по несколько повторностей.

В процессе наблюдения за состоянием гибридных и контрольных популяций на протяжении 10 поколений учитывались численность и смертность яиц, личинок, взрослых особей, соотношение полов и разных возрастных групп дитиленхов, наличие, характер и степень развития аномалий в размерах, форме и строении нематод и яиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во всех опытах происходило скрещивание с получением плодовитого потомства. Стеблевая нематода красного клевера свободно скрещивается в реципрокных комбинациях с дитиленхами всех названных растений. Однако в гибридных популяциях наблюдались отклонения от нормы, выраженные в различной степени в разных комбинациях дитиленхов.

При скрещивании дитиленхов красного клевера и лука численность гибридов F_1 и F_2 была значительно меньше, чем в контроле, но уродливых нематод не обнаружено. В последующих поколениях численность и структура гибридных популяций была в норме, однако в них встречалось повышенное количество аномальных особей, преимущественно личинок II и III возраста, причем часть из них, в основном только что вылупившиеся личинки, оказалась мертвыми. Преобладали утолщения и бугры в разных частях тела, культи хвоста. В комбинации с участием самок красноклеверного дитиленха уродства встречались во всех поколениях, начиная с F_3 ; при обратном скрещивании их почти не было до F_7 , а в F_7 — F_{10} обнаружено много, особенно в F_7 и F_8 (до 44—63 особей на стандартную пробу примерно в 3 тыс. нематод). В контроле аномалии, как правило, отсутствовали либо имелись у единичных особей. Только в одном опыте клеверного контроля обнаружено много уродливых нематод: 32 на пробу.

К л е в е р н о - з е м л я н и ч н ы е г и б р и д н ы е п о п у л я ц и и были малочисленнее контрольных. Особенно это характерно для комбинации с самками красноклеверного дитиленха, в которой ни в одном опыте не было массового количества нематод, тогда как в контроле преобладала массовая численность особей. В ряде поколений клеверно-зем-

ляничных гибридов обнаружено много мертвых яиц и нематод, среди которых преобладали личинки II возраста. Наблюдались нарушения структуры гибридных популяций, преимущественно в комбинации с участием самок стеблевой нематоды красного клевера. Они происходили главным образом за счет снижения численности личинок, особенно во II и III поколениях. Но в некоторых опытах отмечено нарушение соотношения полов в сторону уменьшения количества личинок-самок; попадались молодые самки с сильно недоразвитой половой трубкой.

Для клеверно-земляничных гибридов характерно наличие большого количества аномалий, которые обнаружены во всех поколениях, кроме F_1 .

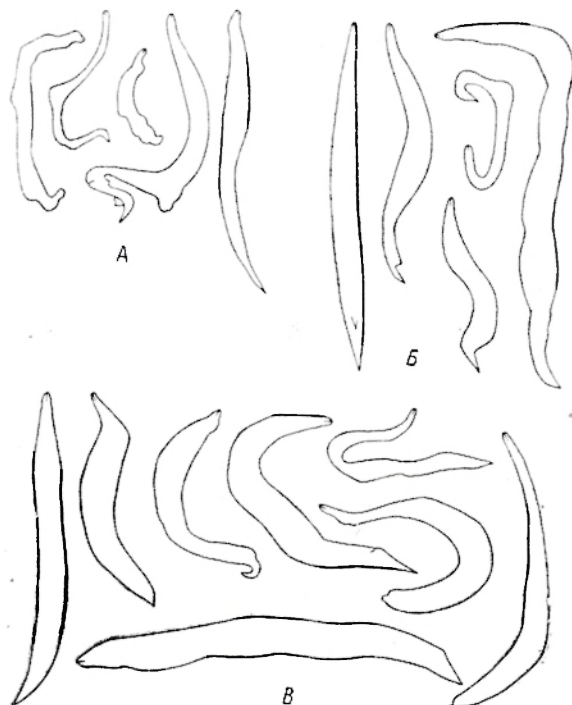


Рис. 1. Общий вид аномальных гибридных нематод.

А — гибриды от дитиленхов красного клевера и земляники;
Б — гибриды от дитиленхов красного клевера и петрушки;
В — гибриды от дитиленхов красного клевера и пастернака.

Особенно много их было в потомстве от самок дитиленха красного клевера и самцов дитиленха земляники: до 117 уродливых нематод на пробу. В контроле аномалии отсутствовали или встречались единично. Среди уродливых гибридов преобладали личинки разного возраста с резкими отклонениями от нормы в размерах, форме и строении тела (утолщения, искривления, бугры в разных частях тела, общее утолщение и укорочение тела, сильно деформированные хвосты; рис. 1 и 2).

Скрещивание дитиленхов красного клевера и нарциссов шло нормально, и во всех опытах получено многочисленное потомство гибридов F_1 . В ряде последующих поколений, а именно с F_3 до F_7 , численность контрольных нарциссовых и гибридных популяций, особенно

в комбинации с участием самок красноклеверного дитиленха, держалась на низком уровне. В клеверном контроле снижение численности нематод было выражено значительно слабее. Данные опыты приходились на жаркое сухое лето 1972 г., когда температура в лаборатории поднималась до $+29^\circ\text{C}$, поэтому подопытный материал ставили на день в холодильник при $10-12^\circ\text{C}$. Такой режим, по-видимому, был недостаточно благоприятным для нарциссовой формы стеблевой нематоды и для ее гибридов с дитиленхом красного клевера, что, вероятно, и вызвало снижение темпов их размножения. Но в клеверном контроле размножение нематод шло сравнительно хорошо, хотя ни в одном опыте не наблюдалось массового количества особей. Следует отметить, что часть луковиц подсохла или полностью засохла, что отразилось на численности популяций в последующий период, когда температура снизилась до оптимальной для размножения стеблевых нематод. Но в опытах с хорошо сохранившимися луковицами численность гибридных и контрольных популяций в F_7-F_{10} была высокой.

Структура гибридных популяций в опытах с достаточным количеством нематод не отличалась от контроля. Аномалий не было или они име-

лись у единичных особей. Исключением были два опыта, в которых в F_7 обнаружены 21 и 12 уродливых нематод на пробу, соответственно в комбинации с участием самок красноклеверного дитиленха и при обратном скрещивании. Аномалии были в виде культей хвоста и бугров, главным образом в задней части тела личинок разного возраста. Но и в клеверном контроле в это время также в одном опыте обнаружены 32 уродливые особи на пробу. Вполне возможно, что появление аномалий в данных случаях было результатом последствия повышенной температуры летнего периода, так как эти популяции развились из сформировавшихся в недостаточно благоприятных условиях августа 1972 г. личинок IV возраста после их пересадки в незараженные луковичы в конце этого месяца.

Клеверно-пастернаковые гибриды размножались интенсивно и давали многочисленные гибридные популяции во всех по-

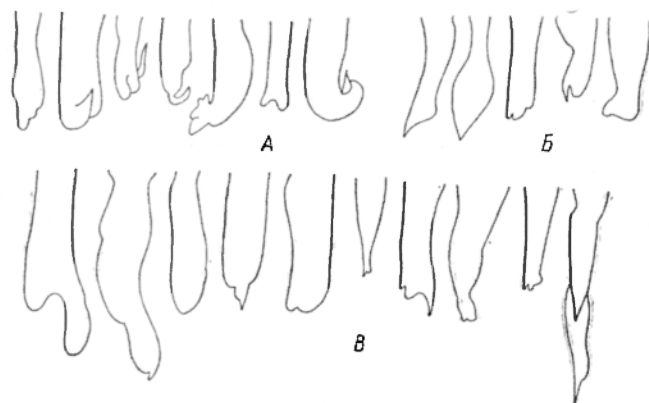


Рис. 2. Аномалии хвостовой части тела гибридов.

А — гибриды от дитиленхов красного клевера и земляники; Б — гибриды от дитиленхов красного клевера и петрушки; В — гибриды от дитиленхов красного клевера и пастернака.

колениях, хотя в некоторых из них количество нематод все-таки было меньше, чем в контроле, а в единичных опытах найдены мертвые личинки и яйца. Структура гибридных популяций была, как правило, в норме, но в F_7 — F_{10} в ряде опытов наблюдались нарушения в соотношении возрастных групп нематод за счет уменьшения численности яиц и личинок, особенно II возраста. Однако и в пастернаковом контроле в двух опытах IV поколения оказалось сравнительно мало личинок, а в одном опыте часть яиц были мертвыми. Следует заметить, что на протяжении всего хода этих экспериментов, с октября 1973 г. по май 1974 г., условия для размножения и развития нематод были оптимальными, за исключением нескольких суток в январе 1974 г., когда температура поднималась до 27°C ; в это время развивалось IV поколение нематод.

В клеверно-пастернаковых гибридных популяциях обнаружено большое количество уродливых нематод в F_6 — F_{10} (до 63—114 на пробу). Чаще они попадались в комбинации с самками красноклеверного дитиленха. В контроле аномалии отсутствовали, а если имелись, то у единичных особей. Среди аномальных клеверно-пастернаковых гибридов преобладали укороченные толстые личинки разного возраста, попадались много личинок с буграми и локальными утолщениями в разных частях тела; у некоторых оказались деформированные хвосты; встречались совершенно прозрачные личинки III—IV возраста и взрослые короткие толстые нематоды, в том числе единичные самки с яйцами (рис. 1 и 2).

Для проверки жизнеспособности аномальных особей мы выбрали из F_7 гибридного потомства от самок дитиленха пастернака и самцов дитиленха красного клевера 58 коротких толстых нематод, преимущественно личинок II—IV возраста, и внесли их в незараженную луковичу

лука [опыт 1(18), 1974 г.]. При анализе луковицы через 37 суток было найдено 33 нематоды, в большинстве живые упитанные особи, многие из них активно двигались, но некоторые были мертвыми, а единичные прозрачными. Среди этих нематод оказались главным образом личинки III—IV возраста, а также взрослые особи, однако самки с яйцами, отложенные яйца и личинки новой генерации не обнаружены. Следовательно, аномальные гибридные особи росли и развивались, но не размножались.

Наибольшие отклонения от контроля наблюдались у гибридов между самками дитиленха красного клевера и самцами дитиленха петрушки. В данной комбинации получено довольно много гибридов F_1 , но они размножались слабо. Резкое снижение плодовитости проявилось у потомства этих гибридов в ряде поколений, несмотря на благоприятные условия для размножения и развития стеблевых нематод. Численность гибридных особей в F_2 и в последующих генерациях держалась на очень низком уровне. Гибридные популяции развились только в трех опытах (в F_6 , F_9 и F_{10}), но количество нематод в них оказалось значительно меньше, чем в контроле: их было примерно столько, сколько в стандартной пробе или еще меньше. Для гибридного потомства от самок дитиленха красного клевера и самцов стеблевой нематоды петрушки характерны высокая смертность яиц и нематод, главным образом личинок II возраста, а также нарушения соотношения возрастных групп в сторону количественного преобладания взрослых особей над личинками. В некоторых опытах не обнаружено ни яиц, ни личинок II возраста.

При обратных скрещиваниях в комбинации самок дитиленха петрушки с самцами дитиленха красного клевера получены многочисленные гибридные популяции во всех поколениях, но все-таки в F_2 — F_6 нематод было значительно меньше, чем в контроле. Мертвых нематод и яиц не найдено. Структура гибридных популяций в большинстве опытов на отличалась от контроля. В то же время в ряде поколений (F_2 , F_4 , F_6 и F_9) в некоторых случаях отмечена сравнительно низкая численность яиц и личинок, особенно II возраста.

У клеверно-петрушковых гибридов обнаружено много анатомо-морфологических аномалий, преимущественно в виде укорочения и общего утолщения тела, бугров и локальных утолщений в разных частях тела, главным образом у личинок разных стадий развития (рис. 1, 2). Следует заметить, что уродливые особи чаще встречались в последних пяти гибридных поколениях. В контроле аномалии, как правило, отсутствовали или имелись у единичных нематод, за исключением одного опыта в F_7 петрушкового контроля, в котором было повышенное количество уродливых личинок, преимущественно III возраста, с укороченным толстым телом, с буграми в разных местах и культями хвостов.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Материалы данного исследования и литературные сведения (Ладыгина, 1969, 1972, 1974; Eriksson, 1965; Jones, 1965; Sturhan, 1964, 1966; Webster, 1967) говорят о том, что в экспериментальных условиях дитиленх красного клевера скрещивается с десятью другими формами стеблевых нематод *Ditylenchus dipsaci*, а именно с дитиленхами лука, земляники, пастернака, петрушки, люцерны, овса, ржи, нарциссов, флоксов и тюльпанов, причем с большинством из них скрещивание идет реципрокно, а в половине комбинаций получены многочисленные гибридные популяции (рис. 3, а). Это свидетельствует о близком генетическом родстве красноклеверного дитиленха с перечисленными выше формами *D. dipsaci*.

В то же время обращает на себя внимание большое разнообразие результатов скрещивания в разных комбинациях дитиленхов. Ярче всего оно проявляется в наличии не только реципрокных, но и односторонних скрещиваний, например между дитиленхами красного клевера (♂) и тюль-

панов (♀), которые к тому же дают бесплодное гибридное потомство (Webster, 1967). Одностороннее скрещивание красноклеверного дитиленха (♂) с дитиленхами люцерны (♀) и овса (♀) наблюдалось в опытах Джонса (Jones, 1965) и Эриксона (Eriksson, 1965), но по данным Уэбстера (Webster, 1967) эти формы скрещиваются реципрокно, хотя в комбинациях с участием самок дитиленха красного клевера гибриды оказались стерильными. Имеющиеся некоторые расхождения в результатах исследований

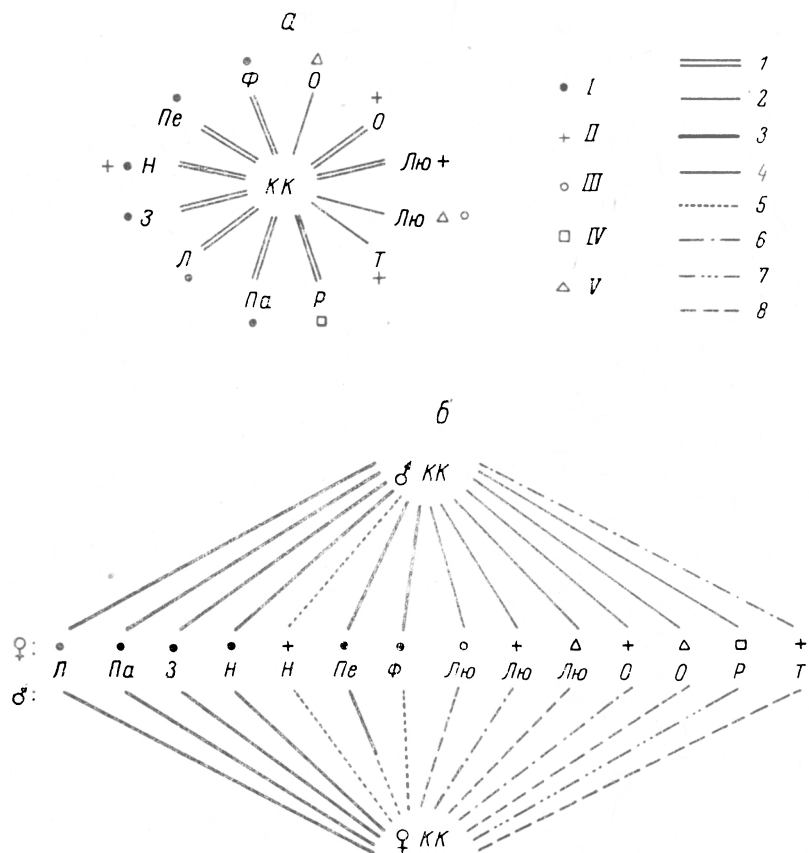


Рис. 3. Схема скрещиваемости дитиленха красного клевера (KK) с дитиленхами земляники (З), лука (Л), люцерны (Лю), нарциссов (Н), овса (О), пастернака (Па), петрушки (Пе), ржи (Р) и тюльпанов (Т).

I — наши данные; II — по Webster, 1967; III — по Eriksson, 1965; IV — по Sturhan, 1964, 1966; V — по Jones, 1965. a: 1 — двустороннее скрещивание; 2 — одностороннее скрещивание; б: 3 — многочисленные гибридные популяции; 4 — малочисленные гибридные популяции; 5 — гибриды плодовиты, но популяции не образуются; 6 — гибриды бесплодны; 7 — яйцеклетка идет, но личинки не развиваются; 8 — скрещивание не происходит.

разных авторов по скрещиванию стеблевых нематод в одинаковых комбинациях, в том числе значительные различия в численности клеверно-нарциссовых гибридов в наших опытах и в экспериментах Уэбстера, по-видимому, обусловлены не только причинами методического характера, но и особенностями различных популяций одних и тех же форм дитиленхов.

При реципрокном скрещивании в разных комбинациях дитиленхов получены также очень разнообразные данные (рис. 3, б). Это касается численности и плодовитости гибридного потомства, величины смертности яиц и разных возрастных стадий гибридов, степени нарушения структуры гибридных популяций, частоты появления aberrantных особей с анатомо-морфологическими аномалиями и степени развития уродливых признаков у нематод и яиц в гибридных популяциях.

Наблюдавшиеся в ряде комбинаций нескрещиваемость или слабая скрещиваемость стеблевой нематоды красного клевера с некоторыми из дитиленхов, стерильность и резкое снижение плодовитости гибридов, повышенная смертность гибридных яиц и нематод, особенно личинок ранних стадий развития, препятствующие образованию популяций, нарушение структуры и малочисленность гибридных популяций по сравнению с контролем, большое количество анатомо-морфологических аномалий среди гибридного потомства — все эти факты свидетельствуют о существенных генетических различиях между скрещиваемыми формами и указывают на определенное генетическое обособление стеблевой нематоды красного клевера от многих дитиленхов, на их частичную генетико-физиологическую несовместимость, которая проявляется в различной степени в разных сочетаниях родительских пар.

Необходимо отметить в качестве закономерности тот факт, что любые проявления генетико-физиологической несовместимости дитиленха красного клевера с другими дитиленхами (от анатомо-морфологических аномалий до одностороннего скрещивания) выражены сильнее в комбинациях с участием самок стеблевой нематоды красного клевера, причем во всех без исключения сочетаниях родительских пар.

Сравнительный анализ данных позволяет говорить о наибольшей генетической близости дитиленха красного клевера к луковой нематоде и наименьшей степени его родства с тюльпановой формой. Глубокие генетические расхождения имеются между стеблевой нематодой красного клевера, с одной стороны, и дитиленхами овса, люцерны, ржи, а также флоксов, петрушки, и вероятно, нарциссов, с другой стороны. Генетические отличия красноклеверного дитиленха от дитиленхов земляники и пастернака выражены слабее.

Результаты скрещиваний и наблюдений за гибридным потомством свидетельствуют о появлении механизмов репродуктивной изоляции между стеблевой нематодой красного клевера и целым рядом форм *D. dipsaci*. Эти механизмы развиты в разной степени у различных дитиленхов. Они указывают на существенную дифференциацию генетической структуры дитиленха красного клевера и других изученных форм стеблевых нематод, которая несомненно связана с их специализацией по растениям-хозяевам. Стеблевая нематода красного клевера является узкоспециализированной биологической расой *D. dipsaci*, находящейся на определенном этапе внутривидовой дифференциации. В настоящее время нет достаточных оснований для выделения ее в самостоятельный вид.

Способность красноклеверной расы скрещиваться с целым рядом других дитиленхов представляет интерес не только в плане выяснения таксономии и дивергенции стеблевых нематод, но и в прямом отношении к практике защиты сельскохозяйственных и декоративных культур от дитиленхоза. Особое значение приобретает реальная возможность образования в полевых условиях многочисленных гибридных популяций при скрещивании различных дитиленхов в общих растениях-хозяевах. Это может иметь место, например, между стеблевой нематодой красного клевера, с одной стороны, и дитиленхами лука, земляники, пастернака, петрушки, люцерны, нарциссов и флоксов, с другой стороны. Все они размножаются в луке, а раса из красного клевера поражает землянику. Это необходимо учитывать при планировании противонематодных севооборотов. Вероятно, имеются и другие виды растений, являющиеся общими хозяевами для красноклеверного и скрещивающихся с ним дитиленхов. Этот вопрос изучен еще недостаточно. Почти совсем не исследована патогенная способность гибридных форм стеблевых нематод. Но некоторые данные Эриксона (Eriksson, 1965), Штурхана (Sturhan, 1966) и Уэбстера (Webster, 1967) показывают, что гибриды имеют иной спектр растений-хозяев, по сравнению с исходными родительскими формами, что расширяет диапазон вредности стеблевых нематод.

Л и т е р а т у р а

- Л а д ы г и н а Н. М. 1969. О физиологической совместимости разных форм стеблевых нематод. I. Скрещивание дитиленхов лука, земляники и клевера. Паразитолог., 3 (6) : 559—567.
- Л а д ы г и н а Н. М. 1972. Итоги исследования физиологической совместимости стеблевых нематод. В кн.: Нематодные болезни сельскохозяйственных культур и меры борьбы с ними. М. : 118—119.
- Л а д ы г и н а Н. М. 1974. О генетико-физиологической совместимости различных форм стеблевых нематод. IV. Скрещивание флоксовой нематоды с другими дитиленхами. Паразитолог., 8 (1) : 63—69.
- С к а р б и л о в и ч Т. С. 1957. К познанию фауны нематод клевера. Тез. докл. научн. конфер. Всес. общ. гельминтологов, посвящ. 40-й годовщине Великой Октябрьской социалистической революции. М. : 68—69.
- E r i k s s o n K. B. 1965. Crossing experiments with races of *Ditylenchus dipsaci* on callus cultures. Nematologica, 11 (2) : 244—248.
- J o n e s F. G. W. 1965. Nematology department. Rothamsted report for 1965 : 138—139.
- S t u r h a n D. 1964. Kreuzungsversuche mit biologischen Rassen des Stengelälchens (*Ditylenchus dipsaci*). Nematologica, 10 (2) : 328—334.
- S t u r h a n D. 1966. Wirtspflanzenuntersuchungen an Bastardpopulation von *Ditylenchus dipsaci*-Rassen. Z. Pflanzenkrankh. und Pflanzen-Schutz, 73 (3) : 168—174.
- W e b s t e r I. M. 1967. The significance of biological races of *Ditylenchus dipsaci* and their hybrids. Ann. Appl. Biol., 59 : 77—83.

ON GENETIC AND PHYSIOLOGICAL COMPATIBILITY DIFFERENT FORMS OF STEM EELWORMS

V. THE CROSSING OF THE RED CLOVER RACE WITH THE OTHER STEM EELWORMS

N. M. Ladygina

S U M M A R Y

Reciprocal hybrids between the stem eelworm of the red clover and those of onion, straw berry, parsnip, parsley and narcissus were obtained. Observations were conducted on the state of hybrid and control populations within 10 generations. A partial genetic and physiological incompatibility of crossed forms of stem eelworms which manifests itself to a different extent in various combinations of parental pairs, was revealed. The red clover eelworm is a biological race of the collective species *Ditylenchus dipsaci*, which is at a certain stage of intraspecific differentiation.
